

Оригінальна стаття = Original article = Оригинальная статья

УДК 616.832-001-089.843:591.88:612.827:612.46:616.8-009.12-009.7-092.9

Вплив нейротрансплантації різних типів алогенних тканин на перебіг синдрому спастичності та хронічного больового синдрому при експериментальній травмі спинного мозку

Медведєв В.В.

Кафедра нейрохірургії,
Національний медичний
університет імені О.О. Богомольця
МОЗ України, Київ, УкраїнаНадійшла до редакції 29.08.16.
Прийнята до публікації 19.09.16.**Адреса для листування:**Медведєв Володимир Вікторович,
Кафедра нейрохірургії,
Національний медичний
університет імені О.О. Богомольця,
вул. Платона Майбороди, 32, Київ,
Україна, 04050, e-mail: vavo2010@
gmail.com**Мета роботи.** Проаналізувати вплив нейротрансплантації різних типів алогенних тканин на перебіг синдрому спастичності та частоту хронічного больового синдрому після спінальної травми в експерименті.**Матеріали і методи.** Експериментальні тварини — білі безпородні щурі-самці (5,5 міс, 300 г, ДУ «ІНХ НАМНУ»); групи: 1 — травма спинного мозку (СМ) + негайна гомотопічна алотрансплантація тканини нюхової цибулини («ТТНЦ», n=34); 2 — травма СМ + аналогічна трансплантація тканини фетального (Е18) мозочка («ТТФМ», n=15); 3 — травма СМ + аналогічна трансплантація тканини фетальної (Е18) нирки («ТТФН», n=8); 4 — травма СМ («контроль», n=16). Модель травми — пересічення лівої половини СМ на рівні Т_{х1}; моніторинг рівня спастичності задньої іпсилатеральної кінцівки (ЗІК) — за шкалою Ashworth.**Результати.** Збільшення (p<0,05) показника спастичності (ПС) реєстрували у групі «контроль» протягом 1–2-го та 5-го місяця; «ТТНЦ» — протягом 1–2-го та 6-го місяця, у групі «ТТФМ» — протягом 3-го тижня; у групі «ТТФН» — протягом 2-го тижня. На 7-му добу ПС у групах «ТТФМ» та «ТТФН» становив ~1 бал (за шкалою Ashworth), у групах «ТТНЦ» та «контроль» — ~0 балів. Протягом 2–4-го тижня відзначали високий (у групах «ТТФМ», «ТТФН»), проміжний (у групі «контроль») та низький (у групі «ТТНЦ») рівень спастичності. Рівень спастичності у групах «ТТФМ» та «ТТФН» перевищував такий в групі «контроль» відповідно протягом 1–3-го та 1–2-го тижня (p<0,05). Рівень спастичності в групі «ТТНЦ» поступався (p<0,05) такому в групах «контроль» (2-й тиждень), «ТТФМ» (1–6-й тиждень) та «ТТФН» (1–3-й тиждень). Значення показника у групах «ТТФМ» та «ТТФН» протягом періоду експерименту різнилося недостовірно. На 24-му тижні спостереження ПС становив: (2,6±0,4) бала («контроль»), (2,2±0,2) бала («ТТНЦ»), (2,1±0,3) бала («ТТФМ») та (1,9±0,3) бала («ТТФН»). У 59% тварин групи «ТТНЦ» виявлена рання спастичність з згинально-привідною установкою у кульшовому та колінному суглобах на тлі м'якого парезу на рівні надп'яtkово-гомількового суглоба та висока (45%) частота виникнення больового синдрому; аналогічну спастичну установку відзначали у 40% тварин групи «ТТФМ» (протягом 2-го місяця) та 25% тварин групи «ТТФН» (протягом 1–2-го тижня). У групі «контроль» у віддаленому періоді ознаки тяжкого нейрогенного больового синдрому спостерігали у 19% тварин, у групі «ТТНЦ» — у 27%, у групі «ТТФМ» — у 6% (1 тварина), у групі «ТТФН» — не було; виявлені відмінності недостовірні.**Висновок.** Апробовані види нейротрансплантації суттєво впливали на перебіг синдрому спастичності, механізми якого пов'язані з особливостями клітинного складу трансплантатів, їх ангиогенними та імуногенними властивостями.**Ключові слова:** травма спинного мозку; тканинна нейротрансплантація; синдром спастичності; хронічний больовий синдром; патофізіологія.

Український нейрохірургічний журнал. 2017;(2):11-21.

The influence of neurotransplantation with different allogenic tissues on the course of the spasticity and chronic pain syndrome after experimental spinal cord injury

Volodymyr V. Medvediev

Department of Neurosurgery,
Bogomolets National Medical
University, Kyiv, UkraineReceived, August 29, 2016.
Accepted, September 19, 2016.**Address for correspondence:**Volodymyr Medvediev, Department of
Neurosurgery, Bogomolets National
Medical University, 32 Platona
Mayborody St, Kiev, Ukraine, 04050,
e-mail: vavo2010@gmail.com**Objective.** To examine the effect of neurotransplantation with different allogenic tissue types on the course of the spasticity and chronic pain syndrome after experimental spinal cord injury.**Materials and methods.** Animals: inbred albino male rats (5.5 months old, 300 g); experimental groups: 1 — spinal cord injury + immediate homotopical transplantation of olfactory bulb tissue (TOBT, n = 34); 2 — spinal cord injury + analogous transplantation of fetal (E18) cerebellum tissue (TFCT, n = 15); 3 — spinal cord injury + analogous transplantation of fetal (E18) kidney tissue (TFKT, n = 8); 4 — spinal cord injury only (control group, n = 16). The model of injury was left-side spinal cord hemisection at T11; spasticity in the ipsilateral hind limb was verified by Ashworth scale.

Results. The increase ($p < 0.05$) of spasticity index was recorded in the control group during the period of 1st — 2nd and 5th month, in TOBT group during the period of 1st — 2nd and 6th month, in TFCT group — during the 3rd week, in TFKT group — during the 2nd week. On the 7th day the spasticity severity in TFCT and TFKT groups was evaluated as 1 point by Ashworth scale, in TOBT and control group it was 0 point. During the 2nd — 4th weeks a high (TFCT, TFKT), intermediate (control group) and low (TOBT) level of spasticity was noticed. The spasticity level in TFCT and TFKT groups exceeded ($p < 0.05$) the indicator of control group during the 1st — 3rd and 1st — 2nd weeks, respectively. The spasticity level in TOBT group conceded ($p < 0.05$) to values of the control group (2nd week), TFCT (1st — 6th week) and TFKT (1st — 3rd week). The difference in spasticity values in TFCT and TFKT groups during the experiment was not significant ($p > 0.05$). On the 24th week of observation the spasticity level in experimental groups was 2.6 ± 0.4 (control group), 2.2 ± 0.2 (TOBT), 2.1 ± 0.3 (TFCT) and 1.9 ± 0.3 (TFKT). Fifty-nine percent of the animals in TOBT group had early spasticity debut with flexion-adduction localization in hip and knee and peripheral paresis (hypotonia/atrophy) at the ankle joint and high prevalence of severe neurogenic pain manifestation (45 %). Similar spastic localization was noted in 40 % of the animals in TFCT group (for 2nd month) and 25 % of the animals in TFKT group (during 1st — 2nd week). In the control group signs of long-term severe neurogenic pain was found in 19 % animals, in TOBT group — in 27 %, in TFCT group — in 6 % (1 animal), in TFKT group no pain signs observed; the incidence difference was not significant.

Conclusion. Approved types of neurotransplantation exert significant influence on the course of spasticity syndrome; the mechanisms of influence related to the cellular structure, angiogenic and immunogenic properties of the grafts.

Keywords: spinal cord injury; tissue neurotransplantation; spasticity syndrome; chronic pain syndrome; pathophysiology.

Ukrainian Neurosurgical Journal. 2017;(2):11-21.

Влияние нейротрансплантации различных типов аллогенных тканей на течение синдрома спастичности и хронического болевого синдрома при экспериментальной травме спинного мозга

Медведев В.В.

Кафедра нейрохирургии,
Национальный медицинский
университет имени А.А.
Богомольца МЗ Украины, Киев,
Украина

Поступила в редакцию 29.08.16.
Принята к публикации 19.09.16.

Адрес для переписки:

Медведев Владимир Викторович,
Кафедра нейрохирургии,
Национальный медицинский
университет имени А.А.
Богомольца, ул. Платона
Майборода, 32, Киев, Украина,
04050, e-mail: vavo2010@gmail.com

Цель работы. Проанализировать влияние нейротрансплантации различных типов аллогенных тканей на течение синдрома спастичности и частоту хронического болевого синдрома после спинальной травмы в эксперименте.

Материалы и методы. Экспериментальные животные — белые беспородные крысы-самцы (5,5 мес, 300 г, ГУ «ИНХ НАМНУ»); группы: 1 — травма спинного мозга (СМ) + немедленная гомотопическая аллотрансплантация ткани обонятельной луковицы («ТТОЛ», $n=34$); 2 — травма СМ + аналогичная трансплантация ткани фетальной (Е18) мозжечка («ТТФМ», $n=15$); 3 — травма СМ + аналогичная трансплантация ткани фетальной (Е18) почки («ТТФП», $n=8$); 4 — травма СМ («контроль», $n=16$). Модель травмы — левостороннее пересечение половины СМ на уровне T_{x1} ; мониторинг уровня спастичности задней ипсилатеральной конечности по шкале Ashworth.

Результаты. Увеличение ($p < 0,05$) показателя спастичности отмечали в группе «контроль» в период 1–2-го и 5-го месяца, в группе «ТТОЛ» — в период 1–2-го и 6-го месяца; в группе «ТТФМ» — в течение 3-й недели, в группе «ТТФП» — в течение 2-й недели. На 7-е сутки показатель спастичности в группах «ТТФМ» и «ТТФП» достигал 1 бала (по шкале Ashworth), в группах «ТТОЛ» и «контроль» — 0 баллов. В течение 2–4-й недели отмечали высокий («ТТФМ», «ТТФП»), промежуточный («контроль») и низкий («ТТОЛ») уровень спастичности. Уровень спастичности в группах «ТТФМ» и «ТТФП» превышал таковой в группе «контроль» соответственно на 1–3-й и 1–2-й неделе ($p < 0,05$); в группе «ТТОЛ» уступал ($p < 0,05$) значению в группах «контроль» (на 2-й неделе), «ТТФМ» (на 1–6-й неделе) и «ТТФП» (на 1–3-й неделе). Значения показателя в группах «ТТФМ» и «ТТФП» в течение периода эксперимента различались недостоверно. На 24-й неделе наблюдения показатель спастичности в группах составил ($2,6 \pm 0,4$) балла («контроль»), ($2,2 \pm 0,2$) балла («ТТОЛ»), ($2,1 \pm 0,3$) балла («ТТФМ») и ($1,9 \pm 0,3$) балла («ТТФП»). У 59% животных группы «ТТОЛ» отмечена ранняя спастичность со сгибательно-приводящей установкой в тазобедренном и коленном суставах на фоне вялого пареза на уровне голеностопного сустава и высокая (45%) частота тяжелого болевого

синдрома; аналогичную спастическую установку отмечали у 40% животных группы «ТТФМ» (в течение 2-го месяца) и 25% животных группы «ТТФП» (на 1-2-й неделе). В группе «контроль» в отдаленном периоде признаки тяжелого нейрогенного болевого синдрома выявлены у 19% животных, в группе «ТТОЛ» — у 27%, в группе «ТТФМ» — у 6% (1 животное), в группе «ТТФП» — отсутствовали; выявленные различия недостоверны.

Вывод. Апробированные виды нейротрансплантации оказывают существенное влияние на течение синдрома спастичности, механизмы которого связаны с особенностями клеточного состава трансплантатов, их ангиогенными и иммуногенными свойствами.

Ключевые слова: травма спинного мозга; тканевая нейротрансплантация; синдром спастичности; хронический болевой синдром; патофизиология.

Украинский нейрохирургический журнал. 2017;(2):11-21.

Вступ. Феномен спастичності є одним з найбільш частих супутників захворювань нервової системи, одним з симптомів центрального парезу — дефіцитом довільної рухової активності в умовах суттєвого зменшення кількості супраспінальних впливів на рухові нейрони (мотонейрони). Ознаки спастичності виявляють у 85% хворих при розсіяному склерозі [1], у 35% — після гострого порушення кровообігу головного мозку з персистою геміплегією [2], у 72–91% — за дитячого церебрального паралічу [3], у 45–78% спінальних хворих [4–8], причому тяжкі форми з виникненням контрактури у паретичних кінцівках протягом першого року після травми — в 11–43% [9]. Загалом, за нашими підрахунками, зважаючи на наведені показники частоти феномену, в Україні кількість хворих з вираженими проявами синдрому спастичності тієї чи іншої етіології становить близько 100 тис. з тенденцією до збільшення.

Іншим поширеним неврологічним розладом є хронічний больовий синдром [10], його нейропатичні форми виявляють у 60–80% спінальних пацієнтів [11, 12], у 62% з них — легкі та середньої тяжкості, у 38% — тяжкі [11].

Обидва ускладнення спінальної травми суттєво погіршують реабілітацію хворих, обмежують застосуванням сучасних технологій протезування рухової функції (наприклад, «зовнішнього скелетування»), підвищують ризик депресивних розладів, суїцидальних намірів. Можливо, між ними існує не лише епідеміологічний, а й патофізіологічний зв'язок. Спастичність є наслідком аутогенної перебудови апарату збудливості мотонейронів, під час якої клітина набуває здатності, незалежно від серотонін- та норадренергічних супраспінальних впливів, генерувати платоподібні деполяризаційні потенціали [13], ймовірно, у відповідь на глутаматергічну стимуляцію сегментарними аферентами СМ. Плато-потенціали виникають завдяки активації потенціалзалежних натрієвих та кальцієвих дендритичних вхідних струмів (persistent inward currents — PICs) [13, 14]. В нормі, активуючись у підпороговому діапазоні деполяризації мембрани мотонейрона, PIC значно підсилюють ефект надпорогових збуджувальних впливів: деполяризавшись до рівня плато, мотонейрон протягом багатьох секунд розряджається пачками потенціалів дії, що необхідно для формування достатнього за інтенсивністю збуджувального впливу на м'язові волокна.

Проте, серед серотонінових та норадреналінових рецепторів є такі, що можуть проявляти активність і без агоніста (медіатора), саме їх експресію на поверхні мотонейрона спостерігають після спінальної травми нижче рівня ураження. До них відносять рецептор серотоніну 5-HT_{2c} [15] та α₁-адренорецептор [14, 16]. Механізм появи на поверхні мотонейронів конституційно активних форм 5-HT_{2c} пов'язують зі зміною редагування його пре-мРНК [17]: у деяких точках розташування аденозину деаміназа ADAR2 (adenine deaminase acting on RNA) перетворює аденозин на інозин, який апарат трансляції розпізнає як гуанозин, що зумовлює зміни послідовності амінокислот та функції рецептора. Нерадагований варіант 5-HT_{2c} має значну конституційну та ліганд-залежну активність [18], редагування зумовлює зменшення афінності до серотоніну та здатності взаємодіяти з G-білком [19, 20]. В нормі активність ADAR2 у тканині СМ значна, за спінальної травми — суттєво зменшується [17]. Фосфоліпаза С, активність якої визначається у тому числі трансдукцією через 5-HT_{2c}, ініціює продукцію інозитол-6-фосфату — кофактору, без якого активність ADAR2 неможлива. За умови значного зменшення рівня серотоніну у тканині СМ (при спінальній травмі) сигнальна трансдукція через редаговані 5-HT_{2c} рецептори і продукція IP6 зменшується, формування активних форм ADAR2 суттєво знижується, що сприяє експресії мотонейронами конституційно активних форм 5-HT_{2c}. При цьому фосфоліпаза-С-залежне підвищення активності ADAR2 не відбувається, ймовірно, через зменшення експресії цієї деамінази. Фосфоліпаза С активується також і іншими каскадами, приміром, глутаматергічними NMDA-залежними. При спінальній травмі уже протягом перших тижнів спостерігають підвищення експресії субодниць NMDA-рецепторів глутамату [21], що розглядають як один з механізмів компенсаторної денерваційної гіперчутливості мотонейронів до збуджувальних сегментарних впливів [22]. Це може певною мірою послаблювати 5-HT_{2c}-залежний механізм спастичності (більш відтермінований у часі), особливо за умови подальшого пластичного збільшення кількості сегментарних входів на депривовані по серотоніну мотонейрони [22]. Отже, при розгляді механізмів спастичності слід брати до уваги роль глутаматергічних компонентів, особливо протягом перших тижнів після травми, зважаючи на більш віддалені строки прояву 5-HT_{2c}-залежних подій

(не раніше 14-ї доби [18], як правило, через кілька тижнів після спінальної травми [14]).

Серотонінергічні супраспінальні впливи мають антиноцицептивний вплив на мережі заднього рогу, отже реалізація 5-HT_{2C}-залежного механізму має стримувати формування больового синдрому [23], що, зважаючи на епідеміологічні дані, у реальних умовах не відбувається. Можливо, це пов'язане зі зменшенням експресії 5-HT_{2C} у СМ на тлі спінальної травми [24], у тому числі нейронами ноцицептивного апарату, що, незважаючи на конституційну активність 5-HT_{2C}, супроводжується зменшенням антиноцицептивного ефекту.

Формування синдрому спастичності [17] та хронічного больового синдрому [25, с. 492–497, 511, 514–519] при спінальній травмі залежить від реалізації компонентів запального процесу, характерного у тому числі для будь-якого нейроінженерного втручання трансплантаційного типу [26, 27]. Попри цей очевидний факт, вивчення впливу таких втручань при спінальній травмі на перебіг синдрому спастичності [28, 29] та хронічного больового синдрому [30–40] становить міноритарну частку робіт, присвячених темі відновного лікування спінальної травми. Крім того, очевидним є факт обмеження сучасних нейроінженерних втручань при спінальній травмі [41–44]; відсутній порівняльний аналіз їх ефективності на тлі тканинної нейротрансплантації, передусім тих її варіантів, що оперують найбільш місткими джерелами потенційних учасників нейропластичного процесу. З позиції сучасної ембріології такими джерелами є:

- фетальний мозочок (перинатальний період розвитку) — містить значну кількість прекурсорів глутаматергічних нейронів [45, 46], дозріваючі ГАМК*-ергічні клітини Пуркінє [47] та численні онтогенетичні регулятори — ефрини, семафорини, нетрини, кадгерини, представники сімейств FGF (fibroblast growth factor), Wnt ("wingless-like" intermediate) та BMP (bone morphogenetic protein), білки Shh (sonic hedgehog), PDGF (platelet-derived growth factor) та VEGF (vascular endothelial growth factor) [48–51];

- зріла нюхова цибулина — містить нейрогенні прогенітори субвентрикулярної зони бічних шлуночків, прекурсори ГАМК-ергічних нейронів, зрілі глутаматергічні мітральні та пучкові (tufted) клітини [52];

- фетальна нирка (пренатальний період розвитку) — джерело VEGF [53, 54], ангіопоетинів [55] та ендотеліальних прогеніторів [56, 57].

Зважаючи на ці обставини, ми вирішили проаналізувати вплив алогенної трансплантації кожного з зазначених видів тканин на перебіг синдрому спастичності та частоту хронічного больового синдрому після експериментальної травми СМ.

Матеріали і методи дослідження.

Експериментальні тварини та експериментальні групи

Дослідження виконане з дотриманням існуючих норм біоетики, регламентів роботи з експериментальними тваринами, оптимальних протоколів знеболення та післяхірургічного догляду на білих безпородних щурах-самцях віком 5,5 міс, масою тіла ~300 г, утримуваних у стандартних умовах віварію,

за звичного харчування. Сформовані такі експериментальні групи:

- група «ТНЦ» (трансплантація тканини нюхової цибулини), тваринам якої одразу після моделювання травми СМ у зону ураження трансплантували фрагмент алогенної тканини нюхової цибулини (n=34);

- група «ТФМ» (трансплантація тканини фетального мозочка), тваринам якої відразу після травми СМ у зону ураження трансплантували фрагмент алогенної тканини фетального мозочка (n=15);

- група «ТФН» (трансплантація тканини фетальної нирки), тваринам якої відразу після нанесення травми СМ у зону ураження трансплантували фрагмент алогенної тканини фетальної нирки (n=8);

- група «контроль», у тварин якої моделювали аналогічну травму СМ (n=16).

Максимальна тривалість спостереження в усіх групах 24 тиж.

Матеріали, використані для трансплантації

Тканину нюхової цибулини ex tempore вилучали у глибоко анестезованих шляхом внутрішньоочеревинного введення суміші розчинів ксилазину («Sedazin», «Biowet», Польща, 15 мг/кг) та кетаміну («Calypsol», «Гедеон Піхтер А.О.», Угорщина, 70 мг/кг) тварин аналогічної маси тіла, віку, статі, породи та умов утримання, з дотриманням умов асептики, звільняли від судинної оболонки, подрібнювали на фрагменти розмірами 1,5–2 мм³, тварину одразу виводили з експерименту. Фетальну нирку та фетальний мозочок ex tempore вилучали у плодів щура 18 діб гестації (E18); у знеболеної (протокол анестезії аналогічний) вагітної самки видаляли матку з плодами, тварину виводили з експерименту, плоди вивільняли з амніотичної оболонки, черевну стінку розсікали по середній лінії і після видалення органоккомплексу отримували обидві нирки, які розділяли на 2 приблизно рівні фрагменти розміром 1,5–2 мм³; в іншому випадку голівку плода поперечно розсікали у місці переходу її у тіло, вилучали мозочок, кожну півкулю розділяли на 2 приблизно рівні половини аналогічних розмірів. Кількість життєздатних клітин у тестовому зразку тканини аналогічного об'єму визначали за стандартним тестом з трипановим синім після отримання дисоційованої культури, що включало макроскопічне подрібнення матеріалу, багаторазове піпетування у середовищі Ігла, центрифугування одержаної суміші зі швидкістю 10 тис. об./хв протягом 1 хв, відбору осаду, його розведення у середовищі Ігла, додавання в отриману суспензію трипанового синього у пропорції 1/4, витримання протягом 1 хв та оцінку результату фарбування у камері Горяєва. Кількість життєздатних клітин, визначена за таким методом, становила протягом періоду експерименту (76±5)%. Тканинний матеріал утримували в ізотонічному розчині натрію хлориду при температурі 37°C.

Моделювання травми спинного мозку

Особливості використаної моделі спінальної травми (пересічення лівої половини поперечника СМ) описані нами раніше [58], у загальних рисах, дотримуючись умов асептики, шкіру фіксованої черевцем до низу знеболеної (протокол знеболення аналогічний)

* ГАМК — гамма-аміномасляна кислота; ключовий гальмівний нейромедіатор.

тварини поздовжньо розсікали на проміжку, достатньому для скелетування остистих відростків $T_{IX}-L_1$, виконували ламінектомію на рівні T_{XI} , списоподібним офтальмологічним скальпелем тканину СМ наскрізно проколювали у дорзо-вентральному напрямку одразу біля лівого краю задньої серединної судини, у рану заводили одну з бранш офтальмологічних ножиць, другою — охоплювали і пересікали у кілька прийомів ліву половину СМ; після самовільного гемостазу тваринам групи «ТТНЦ» у рану СМ уклали фрагмент нюхової цибулини, тваринам групи «ТТФМ» — фрагмент фетального мозочка, тваринам групи «ТТФН» — фрагмент фетальної нирки. Тваринам усіх груп зону ламінектомії укривали фрагментом підшкірної фасції, м'які тканини та шкіру з'єднували крученими поліамідними хірургічними нитками (ум. №1, ПАТ «Київхімволокно») у два ряди вузлових швів, ділянку рани обробляли 5% спиртовим розчином йоду. У задню шийну ділянку підшкірно вводили розчин біциліну-5 (ПАТ «Київмедпрепарат»; ~150–200 тис. ОД на 1 тварину), внутрішньоочеревинно — розчин дексаметазону (KRKA, Словенія, 6 мг/кг). Після цих маніпуляцій тварин протягом 2–4 год утримували в приміщенні з підвищеною температурою повітря (30°C), у подальшому — у клітках по 3–6 особин за середньої температури 21–24°C.

Дослідження синдрому спастичності та частоти тяжкого больового синдрому

ПС на рівні надп'яtkово-гомількового та колінного суглобів задньої іпсилатеральної щодо травми кінцівки (ЗІК) оцінювали за шкалою Ashworth (**див. таблицю**). З метою стандартизації динаміки ПС ЗІК в експериментальних групах, так само як і в попередніх дослідженнях [25, 58], показники у кожній тварині апроксимовані шляхом рандомізованої інтерполяції за допомогою методу ковзного середнього між часовими точками їх вимірювання; відтворені індивідуальні значення ПС ЗІК у строки порівняння, статистичну значущість показників визначали за методом дискретного порівняння реальних значень у певні строки впродовж перших 2 міс спостереження.

Наявність тяжкого больового синдрому реєстрували на підставі виявлення аутофагії в експериментальної тварини.

Статистична обробка отриманих цифрових даних проведена у програмному пакеті Statistica 10.0 з використанням непараметричного U-тесту Манна-Уїтні (Mann-Whitney U-test). Результати оцінки достовірності

Шкала Ashworth для оцінки ПС на рівні досліджуваного суглоба кінцівки

Кількість балів	Клінічний еквівалент
0	Підвищення тону м'язів відсутнє
1	Легке підвищення тону м'язів, мінімальне напруження наприкінці пасивного руху у суглобі
2	Відчутне підвищення тону м'язів протягом усього об'єму пасивного руху; пасивні рухи можливі у повному обсязі
3	Значне підвищення тону м'язів, пасивні рухи обмежені
4	Пасивні рухи у суглобі неможливі, виражена ригідність кінцівки, згинальна чи розгинальна контрактура

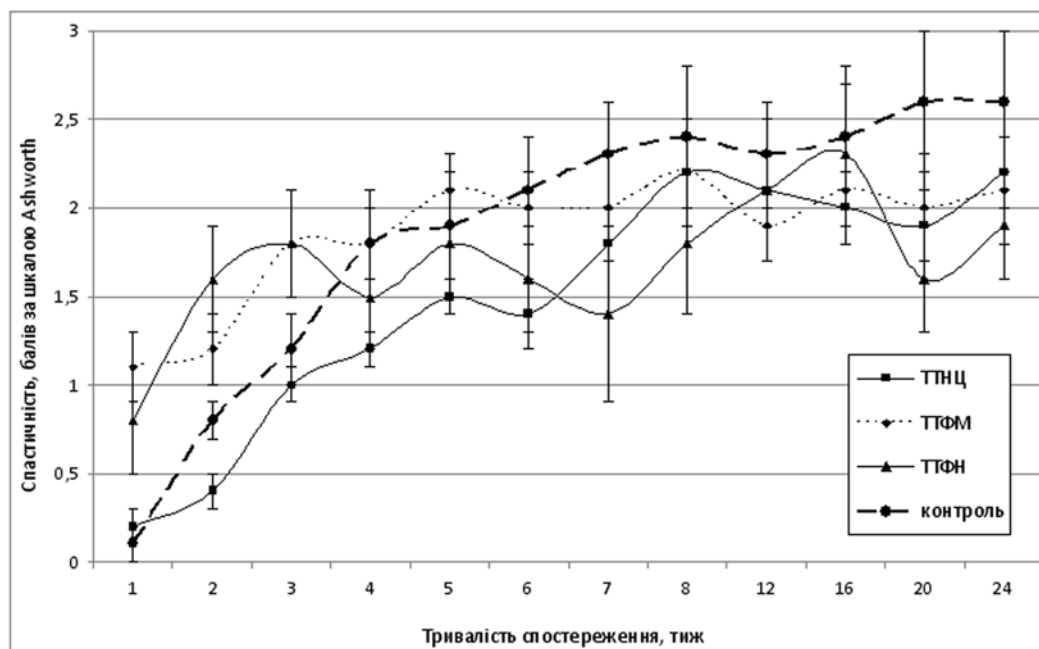
відмінностей між виборками представляли у вигляді значень показника p з звичним їх трактуванням. Різницю значень показника спастичності у різні строки спостереження у межах однієї групи оцінювали за Уїлкоксоном (Wilcoxon), вид і ступінь кореляції між тривалістю посттравматичного періоду (періоду спостереження) та значеннями ПС ЗІК — за ранговим коефіцієнтом Спірмена (Spearman). Непараметричний точний критерій Фішера використовували для аналізу відмінностей частоти (ризик виникнення) тяжкого больового синдрому між експериментальними групами.

Результати та їх обговорення. Найбільший приріст значень ПС у групі «контроль» спостерігали протягом 4 тиж — до (1,8±0,3) бала (за шкалою Ashworth, **див. рисунок**); протягом наступного місяця показник збільшувався до (2,3±0,3) бала ($p=0,043$ відносно показника на 12-му тижні), максимум реєстрували на 20-му тижні — (2,6±0,4) бала, до кінця експерименту — достовірних змін показника не було.

Динаміка значень ПС у групі «ТТНЦ» достовірно відрізнялася від такої в групі «контроль» протягом 2-го тижня: на 14-ту добу він становив у середньому (0,4±0,1) бала, в групі «контроль» — (0,8±0,1) бала ($p<0,01$). В період 1–5-го тижня спостерігали достовірне збільшення ПС до (1,5±0,1) бала, у групі «контроль» — (1,9±0,3) бала ($p=0,14$). Наступний період майже рівновеликого приросту відзначали протягом 6–8-го тижня — від (1,4±0,2) до (2,2±0,3) бала (різниця достовірна; $p=0,002$, $p=0,037$), протягом 8–20-го тижня — достовірно зменшення до (1,9±0,2) бала, далі — збільшення до (2,2±0,2) бала (24-й тиждень). На кінець 2, 4, 6, 7 і 20 тижнів фіксували максимальну різницю ПС між групами «ТТНЦ» та «контроль» (відповідно $p<0,01$; $p=0,09$; $p=0,07$; $p=0,05$; $p=0,09$). Загалом, середні значення ПС у групі «ТТНЦ» протягом усього періоду спостереження поступалося такому в групі «контроль», достовірно — на 14-ту добу.

У групі «ТТФМ» станом на 7, 14-ту та 21-шу добу ПС становив відповідно (1,1±0,2), (1,2±0,2) та (1,8±0,3) бала, в групі «контроль» — (0,1±0,1), (0,8±0,1) та (1,2±0,2) бала (відповідно $p<0,01$, $p=0,05$ та $p=0,05$). При цьому протягом перших двох тижнів експерименту у групі «ТТФМ» не було достовірних змін середнього ПС; значне достовірне його збільшення спостерігали впродовж 3-го тижня — до (1,8±0,8) бала; у подальшому — недостовірні коливання біля 2 балів; на 24-му тижні — (2,1±1,1) бала. Перехрест з кривою динаміки ПС в групі «контроль» відзначений на 4–6-му тижні спостереження, до кінця експерименту перевага ПС в групі «контроль» (максимальна на 20-му тижні, $p=0,2$) недостовірна. Достовірно перевагу ПС порівняно з таким в «ТТНЦ» виявляли протягом перших 6 тиж експерименту, з кінця 8-го тижня значення показника в обох групах рівновеликі.

У групі «ТТФН» динаміка ПС характеризувалася наявністю двох фаз. Для першої фази (1–2-й тиждень спостереження) характерний достовірний приріст значень показника — з (0,8±0,3) до (1,6±0,3) бала, впродовж другої — відсутність достовірних змін. Приріст значень ПС протягом 7–16-го тижня від (1,4±0,5) бала до максимуму — (2,3±0,4) бала наближався до достовірного ($p=0,08$), практично рівновелике зменшення протягом 17–20-го тижня було недостовірним



Динаміка середнього рівня ПС в експериментальних групах протягом періоду спостереження (пояснення в тексті).

($p=0,2$). Достовірну різницю з значеннями ПС в групі «контроль» виявляли протягом перших двох тижнів експерименту на користь групи «ТТФН», рівнозначність показників обох груп — на 4-му тижні, зближення значень — на 16-му; максимальну різницю — на 2-му ($p=0,01$, на користь групи «ТТФН»), 7-му ($p=0,11$, на користь групи «контроль») та 20-му ($p=0,08$, на користь групи «контроль») тижні. Значення ПС в групі «ТТФН» протягом періоду експерименту відрізнялися від таких в групі «ТТФМ» недостовірно, максимально — на 1-2, 5-му та 7-му тижні. Достовірну різницю з показником в групі «ТТНЦ» спостергали протягом 1-3-го тижня, у подальшому, особливо починаючи з 12-го тижня, значення ПС в групах «ТТНЦ», «ТТФМ» та «ТТФН» майже співпадали і відрізнялися від таких в групі «контроль».

У 20 (59%) тварин групи «ТТНЦ» протягом перших 2 міс експерименту виявляли гіперрефлексію м'язів-згиначів та привідних м'язів стегна, що трансформувалася у стійку спастичність з згинально-привідною установкою, згодом — контрактуру у кульшовому, меншою мірою — колінному суглобі, що тривала до кінця експерименту. Натомість, на рівні над'яtkово-гомількового суглоба протягом цього періоду переважав периферійний парез, що поступово, протягом 3-го місяця трансформувалася у типову спастичність. Важливо відзначити рівень розташування мотонейронів, що іннервують ці групи м'язів: мотонейрони литкового м'яза (найбільш концентровані у сегментах $L_{IV}-S_{II}$), розташовані каудальніше, ніж мотонейрони передньої та бічної (L_I-L_{IV} ; приведення стегна, згинання у кульшовому суглобі) і навіть задньої ($L_{IV}-S_I$; згинання у колінному суглобі, розгинання стегна*) групи м'язів стегна, що свідчило про інші, ніж реалізація локальних запальних реакцій, механізми формування феномену.

У групі «ТТФМ» згинально-привідна установка на рівні кульшового та колінного суглобів протягом 2-го місяця виявлена у 40% тварин, у групі «ТТФН» протягом перших тижнів — у 25% (2 тварини).

У інших тварин групи «ТТНЦ» ($n=14$) до кінця першого місяця експерименту виявляли спастичність у над'яtkово-гомільковому суглобі ($n=7$) або розгинальні автоматизми у межах над'яtkово-гомількового та колінного суглобів при різкому піднятті тазового кінця тулуба тварини за хвіст ($n=7$, проба "lift up").

У групі «контроль» тяжкий нейрогенний пост-травматичний больовий синдром (доконану аутофагію чи виражені дистрофічні зміни ЗІК) виявлений у 3 (18,75%) тварин, у групі «ТТНЦ» — у 9 (26,5%), у групі «ТТФМ» — в 1 (6%), у групі «ТТФН» — не було. При цьому не встановлений достовірний зв'язок ймовірності виникнення синдрому у жодній з експериментальних груп. Проте, в групі «ТТНЦ» больовий синдром виник у 9 (45%) з 20 тварин за наявності протягом перших 2 міс експерименту млявого парезу дистальних відділів ЗІК, що свідчило про вірогідну різницю частоти виникнення цього синдрому порівняно з такою у решти тварин «ТТНЦ» ($p=0,032$) та в групах «ТТФМ» ($p=0,015$) і «ТТФН» ($p=0,024$).

Потребують пояснення особливості динаміки спастичності у досліджуваних групах:

- достовірно уповільнення збільшення ПС у групі «ТТНЦ» протягом перших 2 міс, достовірно менше значення показника на 14-ту добу порівняно з таким в групі «контроль»;
- достовірно, практично рівновелике (на 7-му добу — 1 бал) переважання ПС в групі «ТТФМ», меншою мірою — «ТТФН», порівняно з таким в групах «контроль» та «ТТНЦ» протягом 3 тиж експерименту;

* У нашому дослідженні задіяні меншою мірою: розгинання стегна у тварин не спостерігали, спастичність згиначів колінного суглоба помірно виражена.

• відсутність динаміки ПС, починаючи з 3-го («ТТФН»), 4-го («ТТФМ») та 12-го («ТТНЦ») тижня експерименту на відміну від групи «контроль», для якої характерне достовірне неухильне збільшення показника до 20-го тижня.

Інтерпретацію цих особливостей будуватимемо на припущеннях щодо медіаторного та альтернативного, непрямого впливу трансплантатів на збудливість нейронів сусідніх ділянок СМ; непрямий вплив розглядатимемо через призму ангіогенних та прозапальних ефектів трансплантатів.

Можливі медіаторні впливи трансплантатів

З огляду на дані літератури щодо часових меж реалізації різних механізмів спастичності, провідними протягом перших тижнів після травми слід вважати зміни активності глутаматергічних впливів на мотонейронів [22], що є основою відновлення чутливості мотонейронів до дії медіаторних впливів збережених моносинаптичних чи альтернативних полісинаптичних супраспінальних входів, тобто, основою аутогенного, як правило, суттєво обмеженого відновлення функції денервованої кінцівки. На тлі цього процесу виникають спінальна дизрефлексія та інші, дотичні до спастичності, явища, що в сукупності визначають побічний, патологічний наслідок альтернативного налагодження передачі супраспінальних впливів на денервовані мотонейрони. На цьому та всіх подальших етапах роль ГАМК незмінна зменшення збудливості мотонейронів, антиспастичний та протибольовий ефект*.

Нюхова цибулина та фетальний мозочок є двокомпонентними медіаторними системами: перша містить мігруючі попередники ГАМК-ергічних нейронів та фіксовані глутаматергічні нейрони — мітральні та пучкові (tufted) клітини [52], друга, навпаки, містить здатні до обмеженої міграції попередники глутаматергічних нейронів і фіксовані дозріваючі ГАМК-ергічні клітини Пуркінє. Така особливість трансплантатів, на нашу думку, пояснює протилежний характер їх впливу на тонус м'язів ЗІК протягом перших 2 тиж травматичного процесу.

Так, у тварин групи «ТТНЦ» ранні прояви продуктивних рухових розладів у групах м'язів, що іннервуються мотонейронами близьких до трансплантата сегментів СМ (L_1-L_{III}), можуть бути пов'язані з дією фіксованих глутаматергічних нейронів нюхової цибулини, персистенцію яких виявляють протягом перших тижнів після трансплантації [59], особливо в центральних відділах трансплантата. Дистантний антиспастичний ефект у значної кількості тварин цієї групи може бути пов'язаний з ефектом мобільних попередників ГАМК-ергічних нейронів. В умовах інтактного зрілого головного мозку ці попередники мігрують з субвентрикулярної зони бічних шлуночків до нюхової цибулини у товщі рострального міграторного потоку на відстані, що вимірюють сантиметрами [52]. Міграція незрілих клітин нейроектодермального чи мезенхімального фенотипу з зони трансплантації у тканину СМ — доведений факт [35, 60], потребує певного часу, що може пояснити антиспастичний ефект у групі «ТТНЦ» лише на 2-му тижні після травми. Зважаючи на звичне обмеження тривалості життя новоутворених нейронів

нюхової цибулини [52], слід очікувати виснаження такого спекулятивного механізму їх антиспастичної дії, що означатиме спряжене у часі підвищення тонусу м'язів у дистальних відділах ЗІК, реєстроване нами впродовж експерименту. Оскільки у запропонованій патофізіологічній моделі ГАМК-ергічні прекурсорні водночас виявляють і антиалгічний вплив [61], зменшення їх популяції неодмінно позначатиметься виникненням больового синдрому саме у тварин за наявності особливої динаміки синдрому спастичності у дистальних відділах ЗІК протягом першого місяця після травми. Прогресування спастичності та вираженості больового синдрому у ЗІК спричиняє зменшення функціональної активності ЗІК. Трансплантовані у СМ незрілі клітини з такою самою інтенсивністю мігрують і у ростральному напрямку [35, 60], проте тут, за наявності всього спектру супра- та інтраспінальних зв'язків, їх вплив, ймовірно, компенсується, що на даний час не підтверджено.

На відміну від прекурсорів ГАМК-ергічних нейронів нюхової цибулини, попередники глутаматергічних нейронів кори мозочка в інтактних умовах мігрують на вкрай обмежену відстань (між шарами незрілої кори мозочка), причому за сприятливого тканинного оточення, наповненого достатньою кількістю необхідних репелентів чи атракторів [45, 46]. Якщо тканина зрілого СМ певною мірою може нагадувати астроцитарні тунелі рострального міграторного потоку, подібність її з тканиною незрілого мозочка в усіх відношеннях за очевидних причин мінімальна. Отже, ототожнювати міграційний потенціал цих двох видів прекурсорів неможливо, причому, результат такого порівняння не на користь прекурсорів мозочкового походження. Крім того, клітини Пуркінє на момент взяття тканини фетального мозочка незрілі, одразу після народження їх популяція зменшується шляхом апоптотичної елімінації, однією з умов якої є значні зміни факторного оточення [49]. З високою ймовірністю налаштованість незрілих клітин Пуркінє на такий механізм відбору може реалізуватися в умовах ТТФМ. Все це наводить на думку щодо глутаматергічного і слабого ГАМК-ергічного впливу трансплантата, передусім, на прилеглі ділянки СМ; отже, підвищення збудливості мотонейронів дистальних поперекових сегментів у ці строки спостереження у групі «ТТФМ» має іншу природу.

Достовірно вища функціональна активність на 7-му добу після ТТНЦ та ТТФМ у порівнянні з такою в контролі свідчить про позитивну на цьому етапі роль глутаматергічної підтримки збудливості мотонейронів L_1-L_{III} , відновлення їх чутливості до збережених супраспінальних впливів. Для реалізації функції на такому рівні (3 бали за шкалою Basso-Beattie-Bresnahan), за нашими даними, в усіх спостереженнях модельованої травми залучаються саме кульшовий та колінний суглоби.

Непрямі впливи трансплантатів на збудливість нейронів сусідніх ділянок спинного мозку

Зовсім інше поєднання функції та спастичності спостерігали протягом перших 2 тиж у тварин групи «ТТФН»: за нижчої, ніж в групах «ТТНЦ» та «ТТФМ»,

* можливі винятки: через зміни трансмембранного градієнту хлору дія ГАМК може мати деполаризуючий ефект [14].

функціональної активності ЗІК, ПС наближався до такого в групі «ТТФМ», що стосується дистантних відділів ЗІК.

Типова запальна реакція при ураженні СМ суттєво змінюється за наявності трансплантатів. Будь-який нейротрансплантат є тригером імунних реакцій [59], потенціює і подовжує запалення тканин у перифокальній зоні, що характеризується інфільтрацією нейтрофільними гранулоцитами, залученням макрофагів та мікроглоцитів, активацією астроцитарної глії, неоангіогенезом [27]. Мають значення й ангіогенні властивості трансплантатів. Так, ангіогенез у перифокальній зоні характеризується ранньою надмірною (у 1-й тиждень), подальшою деконструкцією та неповноцінним дозріванням збережених судин (до кінця 1-го місяця), їх відтермінованою деконструкцією з супутнім аутоімунним, згодом — ішемічним ураженням перифокальної зони (2–3-й місяць) [59, 61, 62]. Стимуляція ангіогенезу у найгострішому та ранньому періоді після травми може мати не лише позитивний метаботропний ефект, а й спричинити реперфузійне ураження [63, 64] або формування значної кількості новоутворених судин з неповноцінною бар'єрною функцією, тобто, потенціювати подальший аутоімунний процес. З високою вірогідністю з матеріалів, що використовували у дослідженні, концентрація основного ангіогенного фактору VEGF максимальна у тканині фетальної нирки, менша — зрілої нюхової цибулини, мінімальна — фетального мозочка [48, 65–68].

Наведені реакції впливають на збудливість нейронів СМ. Так, при реперфузії ішемізованої тканини мозку зменшується тривалість функціонального обороту (turnover) глутамінсинтетази на тлі ймовірного підвищення її активності; збільшення продукції глутаміну астроцитами зумовлює надмірну продукцію глутамату нейронами з усіма наслідками щодо збудливості локальних нейрональних мереж; пригнічення глутамінсинтетази мозку супроводжується нейропротекторним ефектом [69]. У коротких часових проміжках (до 10 діб) деякі запальні цитокіни (TNF- α , IL-1 α , IL-6, MIP-1 α) проявляють нейропротекторний ефект, нейротоксичний, у тому числі ексайтотоксичний — за тривалої експозиції [70]. Ексайтототоксичний вплив прозапальних чинників, у тому числі TNF- α , на мотонейрони за бічного аміотрофічного склерозу вважають одним з провідних факторів глутамат-опосередкованого збільшення спінальної дизрефлексії та спастичності [71]. Серед причин постаксонотомної загибелі поперекових мотонейронів розглядають NO-залежну глутаматну ексайтотоксичність, спричинену мікроглопатією [70]. Більшість прозапальних чинників (TNF- α , TGF- β , IL-1, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18, LIF, CXCL1, CXCL12, CCL3, CCL5, простагландин E₂, ендотелін-1 тощо) справляють прямий чи опосередкований ексайтототоксичний вплив на спіноталамічні нейрони больового шляху [25, с. 492–497, 511, 514–519]. Доведеною вважають наявність у спектрі аутоімунних антитіл за різноманітних захворювань мозку таких, що збуджують глутаматні рецептори, тобто, справляють ексайтототоксичний вплив на відповідні нейрони [72–74].

При трансплантації апробованих у дослідженні видів біологічних тканин у зону травми мозочка най-

швидші темпи резорбції і, відповідно, найінтенсивнішу тканинну реакцію у товщі трансплантата спостерігали при ТТФН, менш інтенсивну — при ТТНЦ, найменшу — при ТТФМ. Натомість, найбільш висока аутоімунна агресія зафіксована щодо ТТФМ [59]. Це означає, що непрямі ексайтототоксичні впливи можуть реалізуватися, передусім, при ТТФН та ТТФМ.

Нейротоксичні впливи запальних цитокінів чи нейротропних антитіл можуть спричинити елімінацію нейронів травмованого СМ. Ексайтототоксичні впливи аналогічної природи, сприяючи на ранніх етапах травматичного процесу відновленню збудливості, на більших часових проміжках є вагомою причиною загибелі мотонейронів перифокальної зони. Обидва патофізіологічні механізми, сприяючи поступовому зменшенню популяції мотонейронів нижче рівня травми, обмежують прогрес як функції, так і спастичності ЗІК, стабілізуючи їх динаміку, найбільш виражено — у групах «ТТФМ» та «ТТНЦ».

Зазначені механізми елімінації вірогідно поширюються на сенситизовані (надмірно збудливі) спіноталамічні нейрони — патофізіологічний субстрат хронічного больового синдрому. За такої ситуації в групах «ТТФН» та «ТТФМ» вираженість цього ускладнення спінальної травми має бути найменшою. При ТТНЦ, згідно запропонованої моделі, виявлений тимчасовий ГАМК-ергічний ефект на нейрони СМ, у тому числі — на рухові та спіноталамічні нейрони, що зменшує ексайтотоксичну загибель цих клітинних популяцій. Тому при зменшенні ГАМК-ергічного впливу слід очікувати прогресування спастичності та больового синдрому, основними субстратами яких є збережені популяції спіноталамічних та рухових нейронів. За типового перебігу спінальної травми (група «контроль»), реалізується проміжний варіант, що проявляється відповідними показниками частоти спастичності та нейропатичного больового синдрому.

Важливо, що і спіноталамічні нейрони, і мотонейрони володіють механізмом слідової збудливості, перші — сенситизації, другі — формування платопотенціалів. Це необхідно, відповідно, для контекстуального запам'ятовування больового відчуття і точкового, чітко окресленого у часі підсилення електричного імпульсу до рівня, достатнього для активації м'яза. Звідси випливає висновок щодо розташування молекулярних систем спіноталамічних нейронів до формування стану тривалого збудження і збільшення ролі ексайтотоксичних механізмів в їх загибелі. З цієї позиції мотонейрони більш вразливі щодо елімінуючих впливів, реалізація яких меншою мірою залежить від рівня ГАМК-ергічної стимуляції. Отже, ГАМК-ергічний механізм може мати першочергове значення щодо збереження популяції спіноталамічних нейронів.

Не виключена також реалізація антиноцицептивних ефектів глутамату в умовах збільшення його концентрації, приміром, через активацію деяких метаботропних глутаматних рецепторів [75, 76]. Слід також мати на увазі, що в умовах пересічення лише половини поперекового спинного мозку депривація нейронів нижче рівня травми щодо серотоніну та норадреналіну неможлива [77]. Як за таких умов відбувається перебудова шляхів зазначеного медіаторного фенотипу щодо популяції мотонейронів та спіноталамічних нейронів, сьогодні невідомо.

З огляду на недостовірну різницю частоти виявлення тяжкого больового синдрому в експериментальних групах загалом, зумовленої, передусім, значною варіативністю величини груп, актуальними є подальші деталізовані дослідження перебігу цього ускладнення спінальної травми за аналогічних експериментальних умов.

Висновки. 1. Апробовані варіанти нейротрансплантації суттєво впливають на перебіг синдрому спастичності після травми СМ. Достовірне збільшення ПС реєстрували у групі «контроль» протягом 1–2-го та 5-го місяця, у групі «ТНЦ» — 1–2-го та 6-го місяця, у групі «ТФМ» — 3-го тижня, у групі «ТФН» — 2-го тижня. Достовірне зменшення ПС відзначали у групі «ТНЦ» протягом 5-го місяця.

2. Тривалу відсутність достовірних змін ПС виявляли, починаючи з 3-го («ТФН»), 4-го («ТФМ») чи 12-го («ТНЦ») тижня експерименту, на відміну від групи «контроль», для якої характерне достовірне неухильне збільшення показника до 20-го тижня.

3. На 7-му добу експерименту встановлене існування двох пар груп щодо рівня спастичності — «ТФМ» та «ТФН» (близько 1 бала за шкалою Ashworth), «ТНЦ» та «контроль» (близько 0 балів); протягом 2–4-го тижня відзначали три варіанти динаміки — «ТФМ» та «ТФН» (високий рівень спастичності), «контроль» (проміжний рівень) та «ТНЦ» (низький рівень).

4. Значення ПС в групах «ТФМ» і «ТФН» перевищували такі в групі «контроль» відповідно протягом 1–3-го та 1–2-го тижня; в групі «ТНЦ» — достовірно поступалися таким в групі «контроль» (2-й тиждень), «ТФМ» (1–6-й тиждень) та «ТФН» (1–3-й тиждень); в групах «ТФН» і «ТФМ» протягом періоду експерименту різнилися недостовірно; починаючи з 12-го тижня, значення ПС в групах «ТНЦ», «ТФМ» і «ТФН» майже співпадали, чим відрізнялися від таких в групі «контроль», особливо наприкінці експерименту: (2,6±0,4) бала («контроль»), (2,2±0,2) бала («ТНЦ»), (2,1±0,3) бала («ТФМ») та (1,9±0,3) бала («ТФН»).

5. У 59% тварин групи «ТНЦ» виникла рання спастичність з згинально-привідною установкою у кульшовому, меншою мірою — колінному суглобі на тлі м'явого парезу на рівні надп'яtkово-гомількового суглоба; аналогічну спастичну установку спостерігали у 40% тварин групи «ТФМ» (протягом 2-го місяця) та 25% тварин групи «ТФН» (протягом перших тижнів).

6. У групі «контроль» у віддаленому періоді тяжкий нейрогенний посттравматичний больовий синдром виник у 19% тварин, у групі «ТНЦ» — у 27% (45% тварин з ознаками м'явого парезу; ризик виникнення достовірно вищий у порівнянні з таким в групах «ТФМ» і «ТФН»); у групі «ТФМ» — у 6% (1 тварина), у групі «ТФН» — не було; різниця частоти виникнення больового синдрому між експериментальними групами загалом недостовірна.

Подяка

Автор висловлює подяку Н.Г. Драгунцовій за допомогу в опрацюванні первинних цифрових даних, представлених у роботі.

References

- Rizzo MA, Hadjimichael OC, Preiningerova J, Vollmer TL. Prevalence and treatment of spasticity reported by multiple sclerosis patients. *Mult Scler.* 2004;10(5):589-95. PMID:15471378.
- Sommerfeld DK, Eek EU, Svensson AK, Holmqvist LW, von Arbin MH. Spasticity after stroke : its occurrence and association with motor impairments and activity limitations. *Stroke.* 2004;35(1):134-9. PMID:14684785.
- Odding E, Roebroek ME, Stam HJ. The epidemiology of cerebral palsy: incidence, impairments and risk factors. *Disabil Rehabil.* 2006;28(4):183-91. DOI:10.1080/09638280500158422. PMID:16467053.
- Maynard FM, Karunas RS, Waring WP. Epidemiology of spasticity following traumatic spinal cord injury. *Arch Phys Med Rehabil.* 1990;71(8):566-9. PMID:2369291.
- Skold C, Levi R, Seiger A. Spasticity after traumatic spinal cord injury: nature, severity, and location. *Phys Med Rehabil.* 1999;80(12):1548-57. PMID:10597805.
- Walters JS, Sacks J, Othman R, Rakin AZ, Nemchausky B, Chintam R, Wheeler JS. A database of self-reported secondary medical problems among VA spinal cord injury patients: its role in clinical care and management. *J Rehabil Res Dev.* 2002;39(1):53-61. PMID:11926327.
- Malhotra S, Pandyan AD, Day CR, Jones PW, Hermens H. Spasticity, an impairment that is poorly defined and poorly measured. *Clin Rehabil.* 2009;23(7):651-8. DOI:10.1177/0269215508101747. PMID:19470550.
- Hwang M, Zebracki K, Chlan KM, Vogel LC. Longitudinal changes in medical complications in adults with pediatric-onset spinal cord injury. *J Spinal Cord Med.* 2014;37(2):171-8. DOI:10.1179/2045772313Y.0000000150. PMID:24090490.
- Diong J, Harvey LA, Kwah LK, Eyles J, Ling MJ, Ben M, Herbert RD. Incidence and predictors of contracture after spinal cord injury — a prospective cohort study. *Spinal Cord.* 2012;50(8):579-84. DOI:10.1038/sc.2012.25. PMID:22450888.
- van Hecke O, Torrance N, Smith BH. Chronic pain epidemiology and its clinical relevance. *Br J Anaesth.* 2013;111(1):13-8. DOI:10.1093/bja/aet123. PMID:23794640.
- Christensen MD, Hulsebosch C. Chronic central pain after spinal cord injury. *J Neurotrauma.* 1997;14(8):517-37. PMID:9300563.
- Finnerup NB, Norrbrink C, Trok K, Piehl F, Johannesen IL, Sørensen JC, Jensen TS, Werhagen L. Phenotypes and predictors of pain following traumatic spinal cord injury: a prospective study. *J Pain.* 2014;15(1):40-8. DOI:10.1016/j.jpain.2013.09.008. PMID:24268112.
- Heckman CJ, Enoka RM. Motor unit. *Compr Physiol.* 2012;2(4):2629-82. DOI:10.1002/cphy.c100087. PMID:23720261.
- D'Amico JM, Condliffe EG, Martins KJB, Bennett DJ, Gorassini MA. Recovery of neuronal and network excitability after spinal cord injury and implications for spasticity. *Front Int Neurosci.* 2014;8(Art.36):1-24. DOI:10.3389/fnint.2014.00036. PMID:24860447.
- Murray KC, Nakae A, Stephens MJ, Rank M, D'Amico J, Harvey PJ, Li X, Harris RL, Ballou EW, Anelli R, Heckman CJ, Mashimo T, Vavrek R, Sanelli L, Gorassini MA, Bennett DJ, Fouad K. Recovery of motoneuron and locomotor function after spinal cord injury depends on constitutive activity in 5-HT_{2C} receptors. *Nature Med.* 2010;16(6):694-701. DOI:10.1038/nm.2160. PMID:20512126.
- Nardone R, Holler Y, Thomschewski A, Holler P, Lochner P, Golaszewski S, Brigo F, Trinka E. Serotonergic transmission after spinal cord injury. *J Neural Transm (Vienna).* 2015;122(2):279-95. DOI:10.1007/s00702-014-1241-z. PMID:24866695.
- Di Narzo AF, Kozlenkov A, Ge Y, Zhang B, Sanelli L, May Z, Li Y, Fouad K, Cardozo C, Koonin EV, Bennett DJ, Dracheva S. Decrease of mRNA editing after spinal cord injury is caused by down-regulation of ADAR2 that is triggered by inflammatory response. *Sci Rep.* 2015;5(Art.12615):1-15. DOI:10.1038/srep12615. PMID:26223940.
- Ren L-Q, Wienecke J, Chen M, Møller M, Hultborn H, Zhang M. The time course of serotonin 2C receptor expression after spinal transection of rats: an immunohistochemical study.

- Neuroscience*. 2013;236:31-46. DOI:10.1016/j.neuroscience.2012.12.063. PMID:23337537.
19. Burns CM, Chu H, Rueter SM, Hutchinson LK, Canton H, Sanders-Bush E, Emeson RB. Regulation of serotonin-2C receptor G-protein coupling by RNA editing. *Nature*. 1997;387(6630):303-8. PMID:9153397.
 20. Niswender CM, Copeland SC, Herrick-Davis K, Emeson RB, Sanders-Bush E. RNA editing of the human serotonin 5-hydroxytryptamine 2C receptor silences constitutive activity. *J Biol Chem*. 1999;274(14):9472-8. PMID:10092629.
 21. Wienecke J, Westerdahl A-C, Hultborn H, Kiehn O, Ryge J. Global gene expression analysis of rodent motor neurons following spinal cord injury associate molecular mechanisms with development of postinjury spasticity. *J Neurophysiol*. 2010;103(2):761-78. DOI:10.1152/jn.00609.2009. PMID:19939961.
 22. Ditunno JF, Little JW, Tessler A, Burns AS. Spinal shock revisited: a four-phase model. *Spinal Cord*. 2004;42(7):383-95. DOI:10.1038/sj.sc.3101603. PMID:15037862.
 23. Nakae A, Nakai K, Tanaka T, Takashina M, Hagihira S, Shibata M, Ueda K, Mashimo T. Serotonin2C receptor mRNA editing in neuropathic pain model. *Neurosci Res*. 2008;60(2):228-31. PMID:18045717.
 24. Nakae A, Nakai K, Tanaka T, Hosokawa K, Mashimo T. Serotonin 2C receptor alternative splicing in a spinal cord injury model. *Neurosci Lett*. 2013;532:49-54. DOI:10.1016/j.neulet.2012.10.034. PMID:23123772.
 25. Tsybaliuk VI, Medvediev VV. *Spinnoj mozg. Elegia nadezhdy [Spinal cord. Elegy of hope]*. Vinnitsa: Nova Knyga; 2010. Russian.
 26. Praet J, Santermans E, Daans J, Le Blon D, Hoornaert C, Goossens H, Hens N, Van der Linden A, Berneman Z, Ponsaerts P. Early inflammatory responses following cell grafting in the CNS trigger activation of the subventricular zone: a proposed model of sequential cellular events. *Cell Transplant*. 2015;24(8):1481-92. DOI:10.3727/096368914X68280. PMID:25197881.
 27. Le Blon D, Hoornaert C, Detrez JR, Bevers S, Daans J, Goossens H, De Vos WH, Berneman Z, Ponsaerts P. Immune remodelling of stromal cell grafts in the central nervous system: therapeutic inflammation or (harmless) side-effect? *J Tissue Eng Regen Med*. 2016 [Epub ahead of print], DOI:10.1002/term.2188. PMID:27320821.
 28. Wu J, Sun T, Ye C, Yao J, Zhu B, He H. Clinical observation of fetal olfactory ensheathing glia transplantation (OEGT) in patients with complete chronic spinal cord injury. *Cell Transplant*. 2012;21(Suppl.1):33-7. DOI:10.3727/096368912X633743. PMID:22507678.
 29. van Gorp S, Leerink M, Kakinohana O, Platoshyn O, Santucci C, Galik J, Joosten EA, Hruska-Plochan M, Goldberg D, Marsala S, Johe K, Ciacci JD, Marsala M. Amelioration of motor/sensory dysfunction and spasticity in a rat model of acute lumbar spinal cord injury by human neural stem cell transplantation. *Stem Cell Res Ther*. 2013;4(Art.57):1-22. DOI:10.1186/srct209. PMID:23710605.
 30. Hofstetter CP, Holmström NAV, Lilja JA, Schweinhardt P, Hao J, Spenger C, Wiesenfeld-Hallin Z, Kurpad SN, Frisén J, Olson L. Allodynia limits the usefulness of intraspinal neural stem cell grafts; directed differentiation improves outcome. *Nature Neurosci*. 2005;8(3):346-53. DOI:10.1038/nn1405. PMID:15711542.
 31. Hendricks WA, Pak ES, Owensby JP, Menta KJ, Glazova M, Moretto J, Hollis S, Brewer KL, Murashov AK. Predifferentiated embryonic stem cells prevent chronic pain behaviors and restore sensory function following spinal cord injury in mice. *Mol Med*. 2006;12(1-3):34-46. DOI:10.2119/2006-00014. Hendricks. PMID:16838066.
 32. Macias MY, Syring MB, Pizzi MA, Crowe MJ, Alexanian AR, Kurpad SN. Pain with no gain: Allodynia following neural stem cell transplantation in spinal cord injury. *Exp Neurol*. 2006;201(2):335-48. DOI:10.1016/j.expneurol.2006.04.035. PMID:16839548.
 33. Lee JW, Jergova S, Furmanski O, Gajavelli S, Sagen J. Predifferentiated GABAergic neural precursor transplants for alleviation of dysesthetic central pain following excitotoxic spinal cord injury. *Front Physiol*. 2012;3(Art.167):1-12. DOI:10.3389/fphys.2012.00167. PMID:22754531.
 34. Luo Y, Zou Y, Yang L, Liu J, Liu S, Liu J, Zhou X, Zhang W, Wang T. Transplantation of NSCs with OECs alleviates neuropathic pain associated with NGF downregulation in rats following spinal cord injury. *Neurosci Lett*. 2013;549:103-8. DOI:10.1016/j.neulet.2013.06.005. PMID:23791854.
 35. Piltti K, Salazar D, Uchida N, Cummings BJ, Anderson AJ. Safety of human neural stem cell transplantation in chronic spinal cord injury. *Stem Cell Transl Med*. 2013;2:961-74. DOI:10.5966/sctm.2013-0064. PMID:24191264.
 36. Roh DH, Seo MS, Choi HS, Park SB, Han HJ, Beitz AJ, Kang KS, Lee JH. Transplantation of human umbilical cord blood or amniotic epithelial stem cells alleviates mechanical allodynia after spinal cord injury in rats. *Cell Transplant*. 2013;22(9):1577-90. DOI:10.3727/096368912X659907. PMID:23294734.
 37. Watanabe S, Uchida K, Nakajima H, Matsuo H, Sugita D, Yoshida A, Honjoh K, Johnson WE, Baba H. Early transplantation of mesenchymal stem cells after spinal cord injury relieves pain hypersensitivity through suppression of pain-related signaling cascades and reduced inflammatory cell recruitment. *Stem Cells*. 2015;33(6):1902-14. DOI:10.1002/stem.2006. PMID:25809552.
 38. Yao Z-G, Sun X-L, Li P, Liu H-L, Xi Z-Q, Zheng Z-H. Neural stem cells transplantation alleviate the hyperalgesia of spinal cord injured (SCI) associated with down-regulation of BDNF. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(1):404-12. PMID:25785011.
 39. Hua R, Li P, Wang X, Yang J, Zheng P, Niu X, Li Y, An Y. Evaluation of somatosensory evoked potential and pain rating index in a patient with spinal cord injury accepted cell therapy. *Pain Physician*. 2016;19(4):E659-67. PMID:27228535.
 40. Youseffard M., Nasirinezhad F., Manaheji HS, Janzadeh A, Hosseini M, Keshavarz M. Human bone marrow-derived and umbilical cord-derived mesenchymal stem cells for alleviating neuropathic pain in a spinal cord injury model. *Stem Cell Res Ther*. 2016;7(Art.36):1-14. DOI:10.1186/s13287-016-0295-2. PMID:26957122.
 41. Myers SA, Bankston AN, Burke DA, Ohri SS, Whitemore SR. Does the preclinical evidence for functional remyelination following engraftment into the injured spinal cord support progression to clinical trials? *Exp Neurol*. 2016 [Epub ahead of print], Apr. 13: pii: S0014-4886(16)30089-9. DOI:10.1016/j.expneurol.2016.04.009. PMID:27085393.
 42. Dobkin BH. Recommendations for publishing case studies of cell transplantation for spinal cord injury. *Neurorehabil Neural Repair*. 2010;24(8):687-91. DOI:10.1177/1545968310377508. PMID:20921329.
 43. Siebert JR, Eade AM, Osterhout DJ. Biomaterial approaches to enhancing neurorestoration after spinal cord injury: strategies for overcoming inherent biological obstacles. *BioMed Res Int*. 2015;2015(Art. ID 752572):1-20. DOI: org/10.1155/2015/752572. PMID:26491685.
 44. Steeves JD. Bench to bedside: challenges of clinical translation. *Prog Brain Res*. 2015;218:227-39. DOI:10.1016/bs.pbr.2014.12.008. PMID:25890140.
 45. Chang JC, Leung M, Gokozan HN, Gygli PE, Catacutan FP, Czeisler C, Otero JJ. Mitotic events in cerebellar granule progenitor cells that expand cerebellar surface area are critical for normal cerebellar cortical lamination in mice. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2015;74(3):261-72. DOI:10.1097/NEN.0000000000000171. PMID:25668568.
 46. Marzban H., Del Bigio MR, Alizadeh J, Ghavami S, Zachariah RM, Rastegar M. Cellular commitment in the developing cerebellum. *Front Cell Neurosci*. 2015;8(Art. 450):1-26. DOI:10.3389/fncel.2014.00450. PMID:25628535.
 47. Hoshino M. Neuronal subtype specification in the cerebellum and dorsal hindbrain. *Dev Growth Differ*. 2012;54(3):317-26. DOI:10.1111/j.1440-169X.2012.01330.x. PMID:22404503.
 48. Sentilhes L, Michel C, Lecourtis M, Cateau J, Bourgeois P, Laudenbach V, Marret S, Laquerriere A. Vascular endothelial growth factor and its high-affinity receptor (VEGFR-2) are highly expressed in the human forebrain and cerebellum during development. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2010;69(2):111-28. DOI:10.1097/NEN.0b013e3181ccc9a9. PMID:20084021.
 49. Jankowski J, Miething A, Schilling K, Oberdick J, Baader S. Cell death as a regulator of cerebellar histogenesis and compartmentation. *Cerebellum*. 2011;10(3): 373-92. DOI:10.1007/s12311-010-0222-5. PMID:20941559.

50. Kilpatrick DL, Wang W, Gronostajski R, Litwack ED. Nuclear factor I and cerebellar granule neuron development: an intrinsic-extrinsic interplay. *Cerebellum*. 2012;11(1):41-9. DOI:10.1007/s12311-010-0227-0. PMID:22548229.
51. De Luca A, Cerrato V, Fuca E, Parmigiani E, Buffo A, Leto K. Sonic hedgehog patterning during cerebellar development. *Cell Mol Life Sci*. 2016;73(2):291-303. DOI:10.1007/s00018-015-2065-1. PMID:26499980.
52. Nagayama S, Homma R, Imamura F. Neuronal organization of olfactory bulb circuits. *Front Neural Circuits*. 2014;8(Art. 98):1-19. DOI:10.3389/fncir.2014.00098. PMID:25232305.
53. Eremina V, Quaggin SE. The role of VEGF-A in glomerular development and function. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2004;13(1):9-15. PMID:15090854.
54. Reidy KJ, Rosenblum ND. Cell and molecular biology of kidney development. *Semin Nephrol*. 2009;29(4):321-37. DOI:10.1016/j.semnephrol.2009.03.009. PMID:19615554.
55. Woolf AS, Gnudi L, Long DA. Roles of angiopoietins in kidney development and disease. *J Am Soc Nephrol*. 2009;20(2):239-44. DOI:10.1681/ASN.2008020243. PMID:18799719.
56. Halt KJ, Parssinen HE, Junttila SM, Saarela U, Sims-Lucas S, Koivunen P, Myllyharju J, Quaggin S, Skovorodkin IN, Vainio SJ. CD146+ cells are essential for kidney vasculature development. *Kidney Int*. 2016;90(2):311-24. DOI:10.1016/j.kint.2016.02.021. PMID:27165833.
57. Hu Y, Gomez A, Sequeira-Lopez MLS. Hemovascular progenitors in the kidney require sphingosine-1-phosphate receptor 1 for vascular development. *J Am Soc Nephrol*. 2015;27(7):1984-95. DOI:10.1681/ASN.2015060610. PMID:26534925.
58. Tsybaliuk V, Medvediev V, Semenova V, Grydina N, Senchuk Yu, Velychko O, Dychko S, Vaslovych V. [The model of lateral spinal cord hemisection. Part I. The technical, pathomorphological, clinical and experimental peculiarities]. *Ukrainian Neurosurgical Journal*. 2016;(2):18-27. Ukrainian.
59. Tsybaliuk VI, Medvediev VV. Ce.re.bellum, abo mozochok [Cerebellum]. Vinnytsa: Nova Knyga; 2010. Ukrainian.
60. Karimi-Abdolrezaee S, Eftekharpour E, Wang J, Schut D, Fehlings MG. Synergistic effects of transplanted adult neural stem/progenitor cells, chondroitinase, and growth factors promote functional repair and plasticity of the chronically injured spinal cord. *J Neurosci*. 2010;30(5):1657-76. DOI:10.1523/JNEUROSCI.3111-09.2010. PMID:20130176.
61. Ng MTL, Stammers AT, Kwon BK. Vascular disruption and the role of angiogenic proteins after spinal cord injury. *Transl Stroke Res*. 2011;2(4):474-91. DOI:10.1007/s12975-011-0109-x. PMID:22448202.
62. Yu SW, Friedman B, Cheng Q, Lyden PD. Stroke-evoked angiogenesis results in a transient population of microvessels. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2007;27(4):755-63. DOI:10.1038/sj.jcbfm.9600378. PMID:16883352.
63. Casella GTB, Marcillo A, Bunge MB, Wood PM. New vascular tissue rapidly replaces neural parenchyma and vessels destroyed by a contusion injury to the rat spinal cord. *Exp Neurol*. 2002;173(1):63-76. DOI:10.1006/exnr.2001.7827. PMID:11771939.
64. Chi OZ, Hunter C, Liu X, Weiss HR Effects of anti-VEGF antibody on blood-brain barrier disruption in focal cerebral ischemia. *Exp Neurol*. 2007;204(1):283-87. DOI:10.1016/j.expneurol.2006.11.001. PMID:17188266.
65. Ng Y-S, Rohan R, Sunday ME, Demello DE, D'Amore PA. Differential expression of VEGF isoforms in mouse during development and in the adult. *Dev Dyn*. 2001;220(2):112-21. DOI:10.1002/1097-0177(2000)9999:9999<::AID-DVDY1093>3.0.CO;2-D. PMID:11169844.
66. De Almodovar CR, Lambrechts D, Mazzone M, Carmeliet P. Role and therapeutic potential of VEGF in the nervous system. *Physiol Rev*. 2009;89(2):607-48. DOI:10.1152/physrev.00031.2008. PMID:19342615.
67. Hou Y, Shin Y-J, Han EJ, Choi J-S, Park J-M, Cha J-H, Choi J-Y, Lee M-Y. Distribution of vascular endothelial growth factor receptor-3/Flt4 mRNA in adult rat central nervous system. *J Chem Neuroanat*. 2011;42(1):56-64. DOI:10.1016/j.jchemneu.2011.06.001. PMID:21703344.
68. Muhl L, Moessinger C, Adzemovic MZ, Dijkstra MH, Nilsson I, Zeitelhofer M, Hagberg CE, Huusko J, Falkevall A, Ylä-Herttuala S, Eriksson U. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF)-B and its receptor (VEGFR1) in murine heart, lung and kidney. *Cell Tissue Res*. 2016;365(1):51-63. DOI:10.1007/s00441-016-2377-y. PMID:26928042.
69. Jeitner TM, Battaile K, Cooper AJL. Critical evaluation of the changes in glutamine synthetase activity in models of cerebral stroke. *Neurochem Res*. 2015;40(12):2544-56. DOI:10.1007/s11064-015-1667-1. PMID:26233464.
70. Pajer K, Feichtinger G, Márton G, Sabitzer S, Klein D, Redl H, Nográdi A. Cytokine signaling by grafted neuroectodermal stem cells rescues motoneurons destined to die. *Exp Neurol*. 2014;261:180-9. DOI:10.1016/j.expneurol.2014.05.026. PMID:24907401.
71. Centonze D. Advances in the management of multiple sclerosis spasticity: multiple sclerosis spasticity nervous pathways. *Eur Neurol*. 2014;72(Suppl.1):6-8. DOI:10.1159/000367615. PMID:25278116.
72. Kapadia M, Sakic B. Autoimmune and inflammatory mechanisms of CNS damage. *Prog Neurobiol*. 2011;95(3):301-33. DOI:10.1016/j.pneurobio.2011.08.008. PMID:21889967.
73. Levite M. Glutamate receptor antibodies in neurological diseases: Anti-AMPA-GluR3 antibodies, Anti-NMDA-NR1 antibodies, Anti-NMDA-NR2A/B antibodies, Anti-mGluR1 antibodies or Anti-mGluR5 antibodies are present in subpopulations of patients with either: Epilepsy, Encephalitis, Cerebellar Ataxia, Systemic Lupus Erythematosus (SLE) and Neuropsychiatric SLE, Sjogren's syndrome, Schizophrenia, Mania or Stroke. These autoimmune anti-glutamate receptor antibodies can bind neurons in few brain regions, activate glutamate receptors, decrease glutamate receptor's expression, impair glutamate-induced signaling and function, activate Blood Brain Barrier endothelial cells, kill neurons, damage the brain, induce behavioral/psychiatric/cognitive abnormalities and Ataxia in animal models, and can be removed or silenced in some patients by immunotherapy. *J Neural Transm*. 2014;121(8):1029-75. DOI:10.1007/s00702-014-1193-3. PMID:25081016.
74. Bakpa OD, Reuber M, Irani SR, Antibody-associated epilepsies: clinical features, evidence for immunotherapies and future research questions. *Seizure*. 2016;41:26-41. DOI:10.1016/j.seizure.2016.07.002. PMID:27450643.
75. Palazzo E, de Novellis V, Rossi F, Maione S. Spinal metabotropic glutamate receptor subtype 8: a switch to turn off pain. *Amino Acids*. 2014;46(6):1441-8. DOI:10.1007/s00726-014-1703-5. PMID:24623118.
76. Palazzo E, Marabese I, Luongo L, Guida F, de Novellis V, Maione S. Nociception modulation by supraspinal group III metabotropic glutamate receptors. *J Neurochem*. 2016 [Epub ahead of print]. DOI:10.1111/jnc.13725. PMID:27363363.
77. Camand E, Morel M-P, Faissner A, Sotelo C, Dusart I. Long-term changes in the molecular composition of the glial scar and progressive increase of serotonergic fibre sprouting after hemisection of the mouse spinal cord. *Eur J Neurosci*. 2004;20(5):1161-76. DOI:10.1111/j.1460-9568.2004.03558.x. PMID:15341588.